

COMMUNICATIONS FROM THE DEPARTMENT OF ANATOMY
UNIVERSITY OF LUND, SWEDEN
No 1. 1971

LOKALISATION, UPPTAG OCH OMSÄTTNING
AV VISSA BIOGENA AMINER
OCH MOTSVARANDE AMINOSYROR
I EXOKRIN PANKREAS

AV
PER ALM

1971

DEPARTMENT OF ANATOMY
UNIVERSITY OF LUND
SWEDEN

Från Institutionen för Anatomi och Histologi

Lunds Universitet

LOKALISATION, UPPTAG OCH OMSÄTTNING

AV VISSA BIOGENA AMINER
OCH MOTSVARANDE AMINOSYROR
I EXOKRIN PANKREAS

AV

PER ALM

Lund maj 1971

Yale University Library
1000 University Ave
New Haven, Conn.

LOKALISATION, UPPFÄLLIGHET OCH
AV VÄRDE BERÄKNING
OCH MOTSVÄRDE BERÄKNING
I EXKURSIONER

AV

PER ALM

till Ulla

1902 (1901)

Till grund för denna sammanfattning ligger följande artiklar:

- I Remarkable adrenergic nerves in the exocrine pancreas.
Z. Zellforsch. 83. 178-186. 1967 (tillsammans med L. Cegrell,
B. Ehinger och B. Falck).
- II Gastric and pancreatic sympathetic denervation in the rat.
Technique and results. Scand. J. Gastroenterol. (in press),
(tillsammans med G. Liedberg och Ch. Owman).
- III Histochemical studies on the metabolism of L-DOPA and some
related substances in the exocrine pancreas. Acta physiol. scand.
76. 106-120. 1969 (tillsammans med B. Ehinger och B. Falck).
- IV Fluorescence microscopy of the 5-HTP turnover in the exocrine
pancreas of mice and rats. Z. Zellforsch. 96. 212-221. 1969.
- V Metabolism of L-DOPA and 5-HTP in the exocrine pancreas
studied with autoradiography in the electron microscope.
J. Ultrastruct. (in press), (tillsammans med R. Ekholm och
L. E. Ericson)
- VI Effects of reserpine and prenylamine on the L-DOPA turnover
in the rat exocrine pancreas. Communic. Dept. Anat. Lund 4, 1971
(tillsammans med B. Ehinger, B. Falck och L. Nordgren).
- VII Effects of pilocarpine on L-DOPA turnover in the exocrine rat
pancreas. Acta physiol. scand. (in press).
- VIII Metabolism of L-DOPA in the rat exocrine pancreas.
Communic. Dept. Anat. Lund 6, 1971.

This grant for basic neuroendocrinology is given to the following:

I. Research on the role of the endocrine system in the development of the nervous system. Z. Zellforsch. 67, 178-186, 1967 (Liljeström and L. Cederholm). H. Eklund and H. Eklund.

II. Gastric and pancreatic endocrine function in the rat. Techniq. and results. Scand. J. Gastroenterol. (in press). (Liljeström and G. Liljeström and G. Liljeström).

III. Histochemical studies on the metabolism of L-DOPA and some related substances in the endocrine pancreas. Acta physiol. scand. 92, 106-120, 1968 (Liljeström and H. Eklund and H. Eklund).

IV. Fluorescence microscopy of the 5-HTP turnover in the endocrine pancreas of mice and rats. Z. Zellforsch. 80, 212-221, 1969.

V. Metabolism of L-DOPA and 5-HTP in the endocrine pancreas studied with autoradiography in the electron microscope. J. Ultrastruct. (in press). (Liljeström and H. Eklund and L. E. Eriksson). UNIV. LEIDEN LIB.

VI. Effects of reserpine and pargyline on the L-DOPA turnover in the rat endocrine pancreas. Commun. Dept. Anat. Lund 4, 1971 (Liljeström and H. Eklund, B. Eklund and L. Nordgren).

VII. Effects of pargyline on L-DOPA turnover in the endocrine rat pancreas. Acta physiol. scand. (in press).

VIII. Metabolism of L-DOPA in the rat endocrine pancreas. Commun. Dept. Anat. Lund 6, 1971.

IX Rate of appearance of metabolites in the rat pancreatic juice after administration of ^{14}C -L-DOPA. A preliminary report. Commun. Dept. Anat. Lund 8, 1971 (tillsammans med R. Ekholm och L. E. Ericson).

Artiklarna refereras i texten såsom arbete I, arbete II, arbete III etc.

Introduktion

Pankreas exokrina del karakteriseras av en mycket intensiv protein-syntes, varvid framförallt protein-, fett- och kolhydratspjälkande enzymer bildas i avsevärda kvantiteter. I överensstämmelse härmed har pankreas-körteln en mycket kraftigt aminosyraupptagande förmåga (Hansson 1959). Även aminosyror som ej synes deltaga i proteinsyntesen kan med lätthet tas upp av de exokrina cellerna. Detta förhållande har praktiskt utnyttjats dels i kliniskt bruk vid användandet av ^{75}Se -selenometionin för att åstadkomma scintigram av pankreas (Blau et al. 1962) och dels vid försök att finna specifika röntgenkontrastmedel för pankreaskörteln (Schatz et al. 1968, Ullberg och Blomquist 1968). Rosell et al. (1963) och Ritzén et al. (1965) visade att aminosyrorna DOPA och 5-HTP, vilka är välkända som prekursorsubstanser till de biogena aminerna dopamin, noradrenalin, adrenalin och 5-hydroxytryptamin, koncentrerades till pankreas. I ett inledande arbete med användande av Falck och Hillarps fluorescens teknik upptäcktes emellertid speciella förhållanden beträffande pankreas upptag och omsättning av DOPA (Alm et al. 1967). Kort tid efter L-DOPA administration uppvisade de exokrina cellerna en intensiv fluorescens. Vid en senare tidpunkt var denna begränsad i de exokrina cellernas zymogengranula. Denna mekanism synes vara specifik för den exokrina pankreascellen vid jämförelse med celler i andra exokrina körtlar (Hamberger et al. 1967, Alm, opubliserade resultat).

Syftet med denna undersökning har därför varit att vidare utreda nämnda mekanismer i den exokrina pankreascellen, vilket kan vara av intresse, speciellt som L-DOPA under de sista åren alltmer kommit till användning vid behandlingen av Parkinson's sjukdom.

Material och metoder

En detaljerad redovisning ges i de enskilda arbetena.

Försöksdjur. Materialet omfattade huvudsakligast möss och råttor.

Även katter, kaniner och marsvin har använts.

Introduktion

Pankreas exokrina del karakteriseras av en mycket intensiv protein-
synt, varvid främst till protein-, fett- och kolhydratstapelande enzymer
bildas i avsevärda kvantiteter. I överensstämmelse härmed har pankreas-
körteln en mycket kraftigt aminosyrerik proteinhalt. Även
aminosyror som ej synas deltaga i proteinbiosyn kan med lätthet tas upp av
de exokrina cellerna. Detta förhållande har praktiskt utnyttjats dels i kliniskt
bruk vid användandet av ⁷⁵Sä-selenomethionin för att åstadkomma acintygrar
av pankreas (Blau et al. 1962) och dels vid försök att följa specifika föregån-
gskonstnader för pankreas-körteln (Gohari et al. 1968, Ullberg och Blomquist
1968). Rosell et al. (1963) och Ritzén et al. (1963) visade att aminosyror som
DOPA och 5-HTP, vilka är viktiga som prekursorer för biosynen till de biogena
amineterna dopamin, noradrenerin, adrenalin och 5-hydroxytryptamin, kon-
centreras till pankreas. I ett lösligt arbete med avseende på följande
och Hillarpes fluorocenssteknik upptäcktes emellertid specifika förhållanden
beträffande pankreas upptag och omsättning av DOPA (Aim et al. 1967). Kort
tid efter L-DOPA administration uppträdde de exokrina cellerna en intensiv
fluorescens. Vid en exakt tidpunkt var denna begränsad i de exokrina celler-
nas typomgångar. Denna mekanism synes vara specifik för den exokrina
pankreascellen vid jämförelse med celler i andra exokrina körtlar (Hans-
berger et al. 1967, Aim, opublicerade resultat).

Syftet med denna undersökning har därför varit att vidare utreda näm-
da mekanismer i den exokrina pankreascellen, vilket kan vara av intresse,
speciellt som L-DOPA under de sista åren alltmer kommer till användning
vid behandlingen av Parkinson's sjukdom.

Material och metoder

En detaljerad redovisning ges i de enskilda arbetena.
Försöksdjur. Materialet omfattade huvudsakligen möss och råttor.
Även katter, kaniner och korvår har använts.

Fluorescensmikroskopi. För lokalisering av vissa biogena aminer och deras prekursorsubstanser i vävnadsnitt användes Falck och Hillarps fluorescensmetod (se Falck och Owman 1965).

Mikrospektrofluorometrisk analys av vävnadsnitt utfördes i en Leitz' mikrospektrograf. För identifiering av dopamin respektive noradrenalin utfördes HCl behandling av vävnadsnitten (Björklund et al. 1968).

Intravaskulära tuschinjektioner utfördes för att utreda adrenerga nervers förhållande till kärl och vävnad (se Ehinger 1966, arbetena I-II)

Denervationsexperiment utfördes (arbete II) för att studera pankreas adrenerga innervations ursprung och inverkan på pankreas innehåll av noradrenalin.

Kvantitativa bestämningar av DOPA, dopamin och noradrenalin. DOPA och dopamin från samma prov bestämdes enligt Anton och Sayre (1964). Dopamin bestämdes också enligt Bertler et al. (1958b), modifierad av Häggendal (1963). Praktiskt taget identiska resultat erhöles vid bestämning av dopamin med de två metoderna (se arbete II, Rosengren, personligt meddelande). Med sistnämnda metod bestämdes även pankreas noradrenalin-koncentration. Papperskromatografi utfördes enligt Bertler et al. (1958a) för kvalitativt påvisande av DOPA eller dopamin.

Förekomsten av olika radioaktiva DOPA metaboliter i pankreas efter injektion av ^{14}C -L-DOPA undersöktes enligt Symchowicz och Korduba (1967), något modifierat (arbete VIII). Nedåtgående papperskromatografi utfördes på pankreas-extrakt från råttor, som erhöles ^{14}C -L-DOPA. Efter färgning av kromatogrammen med etylendiamin (Smith 1969) klipptes pappersrem-sorna i lämpliga bitar, vars radioaktivitet bestämdes i en Packard TriCarb vätske-scintillationsräknare (modell 3310). Mindre än 2 % av radioaktiviteten löstes ut i scintillatorvätskan. Symmetrin vid räkning av radioaktivitet fastsittande på pappersbitar har undersökts i modellförsök av Alm och Håkansson (1971). Härvid konstaterades att räknare-resultaten redovisade i arbete VIII sannolikt varierade med mindre än 2 % på grund av variationer i symmetrin.

Yttre pankreasfistel för uppsamling av pankreassaft inopererades på råttor enligt beskrivning av Hansson (1967).

Elektronmikroskopisk autoradiografi användes för att studera den sub-cellulära fördelningen av radioaktivitet efter injektion av ^3H -L-DOPA och ^3H -DL-5-HTP (arbete V).

Student's t-test användes för att undersöka signifikansen av skillnader mellan medelvärden.

Resultat och slutsatser

1. Förekomst av biogena aminer i pankreas från obehandlade råttor

Specifik fluorescens förekommer i adrenerga nerver, små intensivt fluorescerande celler (s.k. SIF-celler) samt i ett litet antal enterokromaffina celler i de stora utförsgångarna (arbete I - III).

De adrenerga nerverna löper i anslutning till kärl (längs med eller till dessa), vilket verifierades med tuschinjektionsteknik. Utmed mycket fin-kalibriga kärl, av kapillärs storlek, löpte ibland fin-varikösa adrenerga nerver (arbete I). Elektronmikroskopiska undersökningar har bekräftat, att adrenerga nerver löper utmed kapillärer i pankreas (Lever, Spriggs och Graham 1968, Ericson 1971). De har huvudsakligen sitt ursprung i ganglion coeliacum eftersom extirpation av detta ganglion leder till ett praktiskt taget fullständigt försvinnande av pankreas noradrenalinhalt (arbete II).

Hos råtta ligger de s.k. SIF-cellerna vanligtvis i relation till pankreas intramurala, parasympatiska ganglier, men kan även påträffas i bindväven. Mikrospektrofluorometriska undersökningar visar, att dessa celler innehåller dopamin (arbete II).

De enterokromaffina cellerna visar gul, 5-hydroxytryptaminliknande fluorescens (arbete III). Mikrospektrofluorometriska undersökningar har ej utförts på dessa celler.

Med kvantitativa fluorometriska metoder har noradrenalin samt sannolikt

dopamin i mycket små mängder påvisats (arbete II). DOPA har ej kunnat påvisas, ej ens efter administration av inhibitorer för DOPA dekarboxylas och monoamin oxidas (arbete VIII), vilka förekommer i råttpankreas (Holz et al. 1942, West 1958, Petkov 1965).

2. Upptag och omsättning av vissa biogena aminer och deras prekursorer

a) Fluorescensmikroskopiska undersökningar

Vid användandet av Falck och Hillarps fluorescensmetod för histokemiska studier över cellers innehåll av vissa biogena aminer har fluorescensintensiteten subjektivt värderats för att på ett enkelt sätt åskådliggöra skillnader i amininnehållet, normalt och vid olika tidpunkter efter inverkan av olika farmaka (jämför Malmfors 1965, Hamberger 1967, Håkanson et al. 1967). Undersökningar av Ritzén (1967) och Olson et al. (1968) har visat att inom vissa gränser är fluorescensintensiteten proportionell mot amin- eller aminosyrakoncentrationen.

I arbetena III-IV och VI-VIII bedömdes den exokrina pankreascellens fluorescensbild subjektivt med avseende på fluorescensens intensitet och lokalisation vid varierande tider efter administration av olika aminer och aminosyror. Intensiteten bedömdes såsom 0 = frånvaro av fluorescens, 1 = svag intensitet, 2 = måttlig intensitet, 3 = stark intensitet och 4 = mycket stark intensitet. I vissa försöksgrupper kunde cirka hälften av försöksdjuren uppvisa en lägre grad av fluorescensintensitet än den andra hälften. I sådana fall betecknades hela gruppens fluorescensintensitet som $\frac{1}{2}$, $1\frac{1}{2}$, $2\frac{1}{2}$ och $3\frac{1}{2}$ vilket motsvaras av benämningarna avsaknad till svag, svag till måttlig, måttlig till stark och stark till mycket stark i arbetena VI, VII och VIII. Fluorescens lokaliserad till zymogengranula benämndes granulär medan fluorescens förekommande i övriga celldelar karakteriserades som diffus.

Fluorescensens lokalisation varierade vid olika tider efter aminosyraadministration (arbetena III-IV, VI-VIII). Efter L-DOPA administration erhöles följande mönster (arbetena III, VI-VIII) : enbart diffus fluorescens och

praktiskt taget ingen granulär fluorescens efter 1 - 5 minuter, diffus och granulär fluorescens efter 10 - 30 minuter, enbart granulär efter 40 minuter och längre tider. Genom att tjockare snitt använts i arbete III kunde dock ingen granulär fluorescens iakttagas efter 10 minuter, eftersom den diffusa cytoplasmatiske fluorescensen täckte zymogengranula. I undersökningarna över omsättningen av L-5-HTP i exokrina pankreasceller (arbete IV) användes också snitt av samma tjocklek som i arbete III, varvid följande fluorescensresultat erhöles: enbart diffus fluorescens efter 10 minuter och från 40 minuter och längre tider enbart granulär fluorescens.

Administration av decarboxylashämmare (NSD 1015) före injektion av L-DOPA eller L-5-HTP hindrade eller fördröjde avsevärt uppkomsten av granulär fluorescens. Sådan uppkom aldrig efter administration av D-DOPA respektive D-5-HTP, vilka ej påverkas av det dekarboxylerande enzymet (Lovenberg et al. 1962). Administration av MAO inhibitor före administration av L-DOPA eller L-5-HTP förlängde påtagligt förekomsten av den granulära fluorescensen. Administration av COMT-inhibitor före injektion av L-DOPA resulterade också i en förlängd granulär fluorescens. Huruvida detta beror på inhibition av COMT eller inverkan på MAO diskuteras i arbete VII.

Eftersom granulär fluorescens sålunda ej uppkommer då aminbildningen från aminosyran hindras, synes det klart, att aminerna dopamin och 5-hydroxytryptamin upplagras i zymogen granula och icke aminosyror L-DOPA eller L-5-HTP.

Efter administration av dopamin eller 5-hydroxytryptamin till ej förbehandlade respektive med MAO inhibitor förbehandlade djur uppträdde i de exokrina pankreascellerna en mycket svag diffus fluorescens vid tidpunkter där administrationen av motsvarande aminosyra framkallade en mycket stark diffus fluorescens. Den granulära fluorescensen vid aminadministration förekom betydligt sparsammare än efter administration av respektive aminosyror. Dessa resultat visar, att i exokrina pankreas-

celler tas dopamin och 5-hydroxytryptamin upp i betydligt sämre grad än deras motsvarande prekursorer.

I arbete III visades även, att aminosyrorna L- α -metyl-DOPA, α -metyl-m-tyrosin och m-tyrosin gav upphov till en diffus fluorescens i de exokrina cellerna, men att granulär fluorescens aldrig kunde påvisas. Detta kan bero på att de bildade aminerna ej kan tas upp av zymogengranula eller att de sistnämnda aminosyrorna dekarboxyleras i betydligt sämre grad av L-DOPA och L-5-HTP (se Lovenberg *et al.* 1962). Det sistnämnda alternativet förefaller mest sannolikt eftersom in vivo och in vitro försök har visat att en rad olika catechol- och indolaminer kan tas upp av zymogengranula (Alm, opublicerade resultat).

b) Elektronmikroskopisk autoradiografi (arbete V)

Den cellulära och subcellulära fördelningen av radioaktivitet efter intravenös injektion av ^3H -L-DOPA och ^3H -DL-5-HTP studerades i muspankreas. I den exokrina delen togs DOPA och 5-HTP upp och omsattes i de celler, som är proteinsyntetiserande (s.k. acinära celler, Ekholm *et al.* 1962a). Med denna teknik kunde upptag av DOPA och 5-HTP ej påvisas i de celler som utsöndrar pankreassaftens elektrolyt- och vatteninnehåll (s.k. centroacinära celler, Ekholm *et al.* 1962b) eller i utförsgångarnas epitelceller.

Tjugo minuter efter administrationen av ^3H -DL-5-HTP förekom autoradiografiska silverkorn i alla cellulära komponenter. Kvantitativa analyser visade, att koncentrationen av silverkorn per ytenhet var störst över de acinära cellernas zymogengranula. Efter en timme var denna koncentration ännu mer uttalad men hade efter 2 och 3 timmar reducerats. Med undantag för Golgi-regionen föreföll koncentrationen av silverkornens fördelning över de andra undersökta cellkomponenterna (endoplasmatiskt retikel, mitokondrier, kärna, acinus lumen) att vara tämligen lika vid de olika tiderna. Den intracellulära fördelningen av silverkorn efter administration av ^3H -L-DOPA överensstämde till mycket stor del med motsvarande efter ^3H -DL-

- 5-HTP men i överensstämmelse med fynden från fluorescensmikroskopi var omsättningen av L-DOPA snabbare än omsättningen av L-5-HTP (jämför arbetena III och IV). Injektion av dekarboxylashämmare före administrationen av respektive aminosyra upphävde koncentrationen av silverkorn över zymogengranula. Koncentrationen av silverkorn över de olika cellkomponenterna var i dessa försök ungefär densamma. Efter MAO inhibition kvarstod radioaktivitet över zymogengranula ännu 3 timmar efter injektion av ^3H -DL-5-HTP.

Ovanstående försök visar på subcellulär nivå, att omsättningen av ^3H -L-DOPA och ^3H -DL-5-HTP överensstämmer med tidigare fluorescensmikroskopiska fynd med betydligt högre aminosyradoser (arbete III-IV, VI-VIII). Till skillnad från dessa visade undersökningarna med elektronmikroskopisk autoradiografi att endast pankreas proteinsyntetiserande celler tog upp DOPA och 5-HTP samt att produkter härrörande sig från dessa aminosyror efter en tid secernerades ut i utförsgångarna.

c) Förekomst av radioaktivitet i pankreassaft efter administration av ^{14}C -L-DOPA (arbete IX)

Radioaktivitet secernerades ut i pankreas gångsystem på råttor efter administration av ^{14}C -L-DOPA, vilket även kan ses autoradiografiskt på mus (arbete V). På råttor försedda med en yttre pankreasflistel uppträdde de högsta mängderna radioaktivitet i de två första 20-minuters proverna, varefter radioaktiviteten successivt avtog i de följande proverna. Detta är intressant eftersom vid injektion av radioaktivt märkta proteinsyntetiserande aminosyror som glycin och histidin de högsta koncentrationerna av radioaktivitet uppträder i pankreassaft vid en betydligt senare tidpunkt än vad som är fallet efter administration av ^{14}C -L-DOPA (Junqueira et al. 1955, Rothschild et al. 1957). Papperskromatografi visade, att den extraherade radioaktiviteten var koncentrerad till den fläck som motsvarade de deaminerade metaboliterna från dopamin d. v. s. dihydroxyphenylättiksyra (DOPAC) och dihydroxyphenylethanol (DOPET). Dessa substanser kan ej histokemiskt påvisas med Falck och Hillarps fluorescensmetod, vilket förklarar frånvaron

av fluorescens i utförsångar efter administration av L-DOPA.

Kvantitativa studier över upptag och omsättning av L-DOPA och dopamin i exokrin pankreas (arbete VIII).

De kvantitativa undersökningarna har visat, att pankreas tar upp dopamin betydligt sämre än DOPA, vilket även de fluorescensmikroskopiska undersökningarna antytt. Efter dopaminadministration, med eller utan föregående injektion av enzymhämmare, var pankreas dopaminkoncentration mycket lägre än efter injektion av L-DOPA, med eller utan föregående administration av enzymhämmare.

Isotopförsök och fluorometrisk undersökningar (arbete VIII) visar, att upptaget av L-DOPA sker mycket snabbt. Därefter metaboliseras aminosyran mycket snabbt, först genom dekarboxylering (genom enzymet DOPA dekarboxylas) till dopamin, som därefter sannolikt omvandlas till deaminerade metaboliter genom inverkan av enzymet monoamin oxidas (MAO). Betydelsen av DOPA dekarboxylas och MAO för pankreas metabolism av L-DOPA framgår av försöken vid inhibition av dessa enzymer. DOPA respektive dopamin kan då påvisas i pankreas under betydligt längre tider än efter administration av endast L-DOPA. Försöken med DOPA dekarboxylas- och MAO-inhibitorer visar också, att pankreas kan upplagra avsevärda kvantiteter DOPA och dopamin.

Papperskromatografiska analyser företogs i syfte att utreda vilka andra substanser än dopamin som förekommer i exokrin pankreas efter L-DOPA administration. Radioaktivitet förekom huvudsakligast i 4 fläckar motsvarande DOPA (fläck I), noradrenalin och 3-O-metyl-DOPA (fläck II), dopamin, dihydroxymandelsyra och normetanefrine (fläck III) samt DOPAC och DOPET (fläck IV). Mot bakgrund av att COMT (catechol-O-methyl transferase) synes vara ett viktigt kataboliserande enzym i extraneurol vävnad (spottkörtlar, Jonason 1969) och att avsevärd COMT-aktivitet påvisats i ap-pankreas (Axelrod et al. 1959), är det anmärkningsvärt, att ingen radioaktivitet uppträdde i den fläck som motsvarade de metoxylerade

metaboliterna av DOPAC och DOPET (HVA respektive MOPET) samt mycket ringa radioaktivitet förekom i den fläck som motsvarade den metoxylerade metaboliten av dopamin (metoxytyramin). Detta visar, att oxidativ deaminering via monoamin oxidas är sannolikt den huvudsakliga väg, på vilken det bildade dopaminet metaboliseras.

Extraktion och rekromatografering av fläck II i ett annat kromatografisystem för att separera noradrenalin och 3-O-metyl-DOPA visade, att den extraherade radioaktiviteten förekom i den fläck, som motsvarade 3-O-metyl-DOPA. Huruvida denna bildats i pankreas eller ej är ännu okänt. Mot bakgrund av att ansevliga mängder 3-O-metyl-DOPA kan påvisas i blodplasma efter injektion av ^{14}C -L-DOPA (Bartholini och Pletscher 1968), att pankreas med lätthet tar upp denna aminosyra (Kuruma, Bartholini och Pletscher 1970) samt att ingen omsättning av catecholaminer och catecholsyror via COMT sannolikt sker (se ovan), förefaller det mycket troligt att radioaktiviteten motsvarande 3-O-metyl-DOPA ej bildats i pankreas utan tagits upp från blodplasman.

De histokemiska studierna (arbetena III, VI-VIII) visar, att diffus fluorescens kan fås att kvarstå längre efter MAO-inhibition, samtidigt som dopamin-koncentrationen förblir hög. Detta antyder, att mer dopamin bildas än vad som omedelbart kan tagas upp av zymogengranula, och att det dopamin som de innehåller sannolikt inte kan påverkas av MAO, vilket däremot synes vara fallet med dopamin i cytoplasman.

Omsättningen av L-DOPA vid ändrad pankreassekretion (arbete VII)

Jämfört med försöksdjur, som endast erhållit L-DOPA resulterade förbehandling med pilocarpin i en nästan fullständig frånvaro av granulär fluorescens. I sistnämnda grupp försvann också den diffusa fluorescensen något snabbare. Vidare uppkom initialt en ökad DOPA koncentration men oförändrad dopaminnivå vid jämförelse med djur som endast erhållit L-DOPA. I den förstnämnda gruppen minskade DOPA och dopaminkoncentrationerna betydligt snabbare än i den sistnämnda gruppen. Vid förbehandling med både

pilocarpin och monoamin oxidas inhibitor erhöjls jämfört med bara MAO inhibition en initialt lägre dopaminnivå som dessutom var oförändrad efter 40 minuter. Under resterande delen av försöksperioden sjönk dopaminnivån snabbare än vad fallet var efter förbehandling med endast monoaminoxidas inhibitor.

Försöken med pilocarpin samt pilocarpin och monoaminoxidas inhibitor visar, att det ökade försvinnandet av DOPA och/eller dopamin beror på en ökad pankreas sekretion mer än på en ökad metabolism.

Inverkan av reserpin och prenylamin på zymogengranulas upplagring av dopamin (arbete VI).

Administration av reserpin eller prenylamin före injektion av L-DOPA hindrade uppkomsten av granulär fluorescens. Från de kvantitativa fluorometriskastämningarna kunde följande resultat erhållas: minskat DOPA- och dopamininnehåll efter reserpinförbehandling och minskat dopamin- men ökat DOPA-innehåll efter förbehandling med prenylamin. Om även monoaminoxidas inhibitor administrerades före L-DOPA injektionen i reserpin och prenylaminförsöken kunde höga dopaminvärden påvisas men fortfarande var den granulära fluorescensen betydligt reducerad vid jämförelse med motsvarande efter enbart L-DOPA administration. Försöken visar, att zymogengranula äger en "upptag-upplagringsmekanism" för bl. a. dopamin, som påverkas av reserpin och prenylamin.

Referenser

- Alm, P., B. Ehinger och B. Falck, L-DOPA turnover in the mouse pancreas. *Life Sci.* 6. 913-917. 1967
- Alm, P. och L. Håkansson, On liquid scintillation of paper chromatograms. I manuskript.
- Anton, A.H. och D.F. Sayre, The distribution of dopamine and dopa in various animals and a method for their determination in diverse biological material. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 145. 326-336. 1964
- Axelrod, J., W. Albers och C.D. Clemente, Distribution of catechol-O-methyl transferase in the nervous system and other tissues. *J. Neurochem.* 5. 68-72. 1959
- Bartholini, G. och A. Pletscher, Cerebral accumulation and metabolism of C¹⁴-DOPA after selective inhibition of peripheral decarboxylase. *J. Pharmacol. exp. Ther.* 161. 14-20. 1968
- Bertler, A., A. Carlsson och E. Rosengren, A method for the fluorimetric determination of adrenaline and noradrenaline in tissues. *Acta physiol scand.* 44. 273-292. 1958 a
- Bertler, Å., A. Carlsson, E. Rosengren och B. Waldeck, A method for the fluorimetric determination of adrenaline, noradrenaline and dopamine in tissues. *Kungl. Fysiogr. Sällsk. Lund Förh.* 28. 121-123. 1958 b
- Björklund, A., B. Ehinger och B. Falck, A method for differentiating dopamine from noradrenaline in tissue sections by microspectrofluorometry. *J. Histochem. Cytochem.* 16. 263-270. 1968
- Blau, M., R.F. Manske och M.A. Bender, Clinical experience with Se⁷⁵-selenomethionine for pancreas visualization. *J. Nucl. Med.* 3. 202. 1962

- Ehinger, B. , Connections between adrenergic nerves and other tissue components in the eye. *Acta physiol scand.* 67. 57-64. 1966
- Ekholm, R. , T. Zelander och Y. Edlund, The ultrastructural organization of the rat exocrine pancreas. I. Acinar cells. *J. Ultrastruct. Res.* 7. 61-72. 1962 a
- Ekholm, R. , T. Zelander och Y. Edlund, The ultrastructural organization of the rat exocrine pancreas. II. Centroacinar cells, intercalary and intralobular ducts. *J. Ultrastruct. Res.* 7. 73-83. 1962.
- Ericson, L.E. , Uptake of H^3 -5-hydroxytryptophan by noradrenergic nerves in the mouse pancreas studied with electron microscopic autoradiography. *Z. Zellforsch.* 113. 441-449. 1971
- Falck, B. och Ch. Owman, A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic monoamines. *Acta Universitatis Lundensis, Sectio II, Nr 7*. 1965
- Hamberger, B. , Reserpine-resistant uptake of catecholamines in isolated tissues of the rat. *Acta physiol. scand. Suppl.* 295. 1967
- Hamberger, B. , K.-A. Norberg och L. Olson, Extraneuronal binding of catecholamines and 3,4-dihydroxyphenylalanine (dopa) in salivary glands. *Acta physiol. scand.* 69. 1-12. 1967
- Hansson, E. , The formation of pancreatic juice proteins studied with labelled amino acids. *Acta physiol. scand.* 46. Suppl. 161. 1959
- Hansson, K. , Experimental and clinical studies in aetiologic role of bile reflux in acute pancreatitis. *Acta chir. scand. Suppl.* 375. 1967
- Holz, P. , K. Credner och Ch. Strübing, Über das Vorkommen der Dopadecarboxylas im Pankreas. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol.* 199. 145-152. 1942

- Håkanson, R., B. Lilja och Ch. Owman, Properties of a new system of aminestoring cells in the gastric mucosa of the rat. *Europ. J. Pharmacol.* 1. 188-199. 1967
- Häggendal, J., An improved method for fluorimetric determination of small amounts of adrenaline and noradrenaline in plasma and tissues. *Acta physiol. scand.* 59. 242-254. 1963
- Jonason, J., Metabolism of dopamine and noradrenaline in normal, atrophied and postganglionically sympathectomized rat salivary glands in vitro. *Acta physiol. scand.* 76. 299-311. 1969
- Junqueira, L.C.U., G.C. Hirsch och H.A. Rothschild, Glycine uptake by proteins of the rat pancreatic juice. *Biochem. J.* 61. 275-278. 1955
- Kuruma, I., G. Bartholini och A. Pletscher, L-DOPA-induced accumulation of 3-O-methyldopa in brain and heart. *Europ. J. Pharmacol.* 10. 189-192. 1970
- Lever, J.D., T.L.B. Spriggs och J.D.P. Graham, A formol-fluorescence, fine-structural and autoradiographic study of the adrenergic innervation of the vascular tree in the intact and sympathectomized pancreas of the cat. *J. Anat.* 103. 15-34. 1968
- Lovenberg, W., H. Weissbach och S. Udenfriend, Aromatic L-amino acid decarboxylase. *J. biol. Chem.* 237. 89-93. 1962
- Malmfors, T., Studies on adrenergic nerves. The use of rat and mouse iris for direct observation on their physiology and pharmacology at cellular and subcellular levels. *Acta physiol. scand.* 64. Suppl. 248. 1965
- Olson, L., B. Hamberger, G. Jonsson och T. Malmfors, Combined fluorescence histochemistry and ³H-noradrenaline measurements of adrenergic nerves. *Histochemie* 15. 38-45. 1968

- Petkov, P., De l'activité monoaminoxidasique dans le pancreas de l'homme et de certains mammifères: rat blanc, cobaye, chat et lapin. *Ann. Histochem.* 10. 17-24. 1965
- Ritzén, M., L. Hammarström och S. Ullberg, Autoradiographic distribution of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan in the mouse. *Biochem. Pharmacol.* 14. 313-321. 1965
- Rosell, S., G. Sedvall och S. Ullberg, Distribution and fate of dihydroxyphenylalanine-2-¹⁴C (DOPA) in mice. *Biochem. Pharmacol.* 12. 265-269. 1963
- Rothschild, H.A., G.C. Hirsch och L.C.U. Junqueira, Radioactive amino acid incorporation into the rat pancreatic juice proteins. *Experientia.* 13. 158-159. 1957
- Schatz, V.B., B.C. O'Brien och W.R. Sandusky, Iodinated phenylalanines. Tests for selective localization in pancreas and preparation of 3,4,5-triiodophenylalanine. *J. Med. Chem.* 11. 140-142. 1968
- Smith, I., Chromatographic and electrophoretic techniques. Volume I - chromatography. Third edition. William Heinemann Medical books Ltd. 1969
- Ullberg, S. och L. Blomquist, Selective localization to pancreas of radioiodinated phenylalanine analogues. *Acta pharmaceutica Suecia* 5. 45-53. 1968
- West, G.B., 5-hydroxytryptamine and hyperglycemia. *Nature* 182. 182-183. 1958

